DOI:10.16016/j.2097-0927.202404087

胰淀素对阿尔茨海默病小鼠学习和记忆能力以及 Akt 信号通路的影响

廖旗荣[1],杨红岩[1],卢 静[1],刘雅婷[1],马琳秋[1],侯明亮[1],周华东[1,2] 233004 安徽 蚌埠,蚌埠医科大学第一附属医院神经内科[1];400042 重庆,陆军特色医学中心神经内科[2]

[摘要] **目的** 探讨胰淀素[也称为胰岛淀粉样多肽(islet amyloid polypeptide,IAPP)]对 APP/PS1 小鼠的学习和记忆能力,以及磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路的影响。**方法** 依据随机数字表法将 APP/PS1 小鼠分为阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)组、IAPP 组,每组 10 只。IAPP 组小鼠腹腔内注射 0.5 μmol/L 的 IAPP,每日 1 次,AD 组小鼠腹腔注射相同剂量的 PBS。2 组小鼠干预时间均为 10 周。采用 Morris 水迷宫检测小鼠学习记忆能力,HE 染色观察小鼠脑海马组织病理形态变化,透射电镜观察小鼠海马神经元超微结构;生化方法检测小鼠海马组织谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)水平、超氧化物歧化酶(SOD),酶联免疫吸附实验(ELISA)试剂盒检测炎症因子白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)和白细胞介素 1β(IL-1β)水平以及 Aβ42 的含量;Western blot 检测 PI3K/Akt 蛋白表达水平。**结果** 与 AD 组相比,IAPP 组小鼠平台潜伏期减少($P<0.01$),穿越平台次数和探索隐藏平台时间均增加($P<0.01$),小鼠游泳速度无明显差异。HE 染色结果显示与 AD 组相比,IAPP 组小鼠海马组织神经细胞数目较多,排列整齐($P<0.05$)。免疫组化结果显示与 AD 组相比,IAPP 组小鼠海马组织 Aβ 蛋白降低($P<0.01$)。与 AD 组相比,IAPP 组小鼠海马组织氧化应激水平和炎症因子水平降低($P<0.01$)。与 AD 组相比,IAPP 组小鼠超微结构观察到神经元线粒体结构较为清晰、空泡化减少,微管、微丝排列较为整齐。与 AD 组相比,IAPP 组小鼠 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 蛋白相对表达量均升高($P<0.01$)。**结论** 胰淀素能够减少海马组织氧化应激和炎症反应,改善 AD 小鼠学习记忆能力,并且促进 PI3K/Akt 信号通路的激活。

[关键词] 阿尔茨海默病;胰淀素;PI3K/Akt 通路;氧化应激;炎症水平
[中图法分类号] R338.64; R745.7; R977.1 [文献标志码] A

Effect of amylin on learning and memory abilities and Akt signaling pathway in mice with Alzheimer's disease

LIAO Qirong[1], YANG Hongyan[1], LU Jing[1], LIU Yating[1], MA Linqiu[1], HOU Mingliang[1], ZHOU Huadong[1,2]
[1]Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical University, Bengbu, Anhui Province, 233004; [2]Department of Neurology, Army Medical Center of PLA, Chongqing, 400042, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of amylin, also known as islet amyloid polypeptide (IAPP), on learning and memory abilities and the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) signaling pathway in APP/PS1 mice. **Methods** A total of 20 APP/PS1 mice were randomly divided into Alzheimer's disease (AD) group and IAPP group, with 10 mice in each group. The mice in the latter group were given an intraperitoneal injection of 0.5 μmol/L IAPP, and those of the former group received same dose of PBS. Both interventions were given once per day, for 10 weeks. Morris water maze test was used to measure the learning and memory abilities; HE staining was employed to observe the pathological changes in the hippocampus; Transmission electron microscopy was utilized to observe the ultrastructure of hippocampal neurons; Biochemical assay were conducted to detect the contents of glutathione peroxidase (GSH-Px),

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81771177)
[通信作者] 周华东,E-mail:zhouhuad@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in hippocampal tissues; ELISA was applied to measure the levels of inflammatory factors such as IL-1β, IL-6, and TNF-α as well as content of Aβ42 in hippocampal tissues; And Western blotting was conducted to detect the expression of PI3K/Akt proteins. **Results** Compared with the AD group, significantly shorter platform latency ($P<0.01$), increased number of traversing the platform and longer time to explore the hidden platform ($P<0.01$) were observed in the IAPP group, but no such difference was seen in the swimming speed of the mice. HE staining displayed that the IAPP group had more and well-arranged nerve cells in the hippocampal tissue when compared with the AD group ($P<0.05$). Lower Aβ protein expression ($P<0.01$), reduced oxidative stress and decreased contents of inflammatory factors ($P<0.01$) in hippocampal tissue were observed in the IAPP group than the AD group. The IAPP group showed clearer structure of neuronal mitochondria, reduced vacuolization, and better arranged microtubules and microfilaments, and elevated expression of p-PI3K/PI3K and p-Akt/Akt proteins when compared with the AD group ($P<0.01$). **Conclusion** Amylin can reduce oxidative stress and inflammatory responses, improve learning and memory abilities in AD mice, and promote the activity of PI3K/Akt signaling pathway.

[**Key words**] Alzheimer's disease; amylin; PI3K/Akt pathway; oxidative stress; inflammatory level

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81771177). Corresponding author: ZHOU Huadong, E-mail: zhouhuad@163.com

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)是一种慢性进行性的脑部疾病,伴有记忆力和认知能力下降[1]。随着全球老龄化,到2050年,全球痴呆将增加2倍,而根据AD的生物学(而不是临床)定义,这一估计值将高出3倍[2]。我国正在快速进入老龄化社会,AD患者不断增加。由于AD缺乏有效的治疗药物,因此AD构成了全球性的重大健康危机,导致患者严重残疾和生活质量下降[3]。AD的脑部病理特征是淀粉样斑块和神经原纤维缠结,发生机制包括炎性反应、氧化应激和能量代谢紊乱等[4]。因此,深入研究AD的病理机制,为探索有效的防治方法提供理论基础。

胰淀素也称为胰岛淀粉样多肽(islet amyloid polypeptide,IAPP),是一种由胰岛β细胞分泌的激素,可以对抗胰岛素抵抗,抑制胰高血糖素分泌,调节包括神经元在内的许多组织和细胞的糖代谢[5]。PI3K是一种细胞内磷脂酰肌醇激酶,受多种生长因子调控,参与细胞的炎性和氧化应激反应[6]。当PI3K被激活时,促使蛋白激酶B(protein kinase B,Akt)从细胞质转移到细胞膜内进行磷酸化并被激活[7]。当被激活时促炎细胞因子减少,PI3K/Akt通路在神经元细胞中有抗炎作用[8]。

IAPP是否可以改变AD的病理变化结论尚不统一,机制尚不明确。一些研究认为IAPP可减少脑部的Aβ,还可以减少神经炎症反应[9-11]。另一些研究提出IAPP加重了Aβ的沉积,并不能改善认知功能[12]。此外,IAPP是否可以通过抗氧化应激来改善AD的症状,以及是否能够影响PI3K/Akt信号通路尚不清楚。因此,本研究采用APP/PS1转基因小鼠作为AD模型,通过腹腔注射IAPP,检测小鼠的认知功能和脑Aβ的表达、脑部氧化应激和PI3K/Akt信号的水平,探讨IAPP是否能够改善小鼠认知损伤,以及影响PI3K/Akt信号通路,为AD的防治提供更多的依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及给药

APP/PS1转基因AD模型小鼠购自南京君科生物工程有限公司。小鼠于SPF级环境下饲养,12 h光照,自由进食水和食物。实验过程中遵循实验动物伦理规定。选取8月龄AD模型雄性小鼠按数字表法随机分为2组,IAPP组和AD组,每组10只。IAPP组小鼠腹腔内注射0.5 μmol/L的IAPP,剂量200 μg/kg,每日1次;AD组小鼠腹腔注射相同剂量的PBS。干预剂量参照文献[9]。2组小鼠干预时间均为10周。给药结束后,进行行为学及相关指标测试。

1.2 主要试剂与仪器

IAPP购自于重庆市思恩特医疗器械有限公司,苏木精伊红(HE)染色试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司。超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和丙二醛(MDA)测试试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。小鼠β淀粉样蛋白42(Aβ42)酶联免疫吸附实验(ELISA)试剂盒购自江苏酶标生物科技有限公司。IL-1β、IL-6和TNF-α的ELISA试剂盒购自ABclonal公司。磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)、蛋白激酶B(AKT)抗体购自CST公司,GAPDH抗体购自Abcam公司。Morris水迷宫购自上海欣软信息科技有限公司,HT7800型透射电子显微镜购自日本Hitach

公司。

1.3 小鼠行为学检测

在小鼠完成腹腔内注射 IAPP 10 周后的第 2 天开始进行 Morris 水迷宫实验,将水迷宫顺时针等分为 4 个象限,放置一透明平台在第 3 象限,加入牛奶使水呈乳白色。定位航行实验:每日依次按第 1、2、3、4 象限顺序将小鼠放入水中,检查者将 90 s 内小鼠第 1 次找到平台并在平台上停留≥10 s 的时间记为逃避潜伏期。若 90 s 后小鼠未找到平台,检查者将小鼠引导至平台并站立 10 s,记录其逃避潜伏期为 90 s。每次训练间隔时间大于 4 min,每日进行 4 次实验,共训练 5 d。空间探索实验:在第 6 天移除平台,然后分别记录 120 s 内小鼠穿过平台的次数和寻找原站台的时间。

1.4 小鼠海马组织氧化应激标志物和血清 Aβ42 的含量

水迷宫实验结束后,2 组小鼠各取 3 只,采用 ELISA 测定血清中 Aβ42 的含量。同时取 2 组小鼠各 3 只一侧海马,试剂盒测定海马中 SOD、GSH-Px、MDA、IL-1β、IL-6、TNF-α 和 Aβ42 的含量。具体操作参考试剂盒说明书的要求。

1.5 HE 染色观察小鼠海马组织病理形态变化

将 2 组小鼠各 3 只一侧海马组织用 4%多聚甲醛固定脱水、包埋、切片,并用 HE 染色,光镜下随机选择 3 个视野拍照,观察海马病理变化,计数海马神经元数量(个/mm^2)。

1.6 免疫组织化学染色

将小鼠海马组织石蜡切片脱蜡、PBS 清洗、抗原修复再次 PBS 清洗后,封闭液室温封闭,加入相应兔抗小鼠一抗(1∶100)和二抗(1∶200),室温孵育 1 h。DAB 显色,复染细胞核,常规脱水、封片,显微镜下观察。使用 Image J 软件对图片进行分析。

1.7 透射电镜观察

将小鼠海马部分的脑组织切成 1 mm^3 的小块,放在 2.5%戊二醛中固定 2 h。经 1%锇酸固定 2 h 后,依次梯度乙醇溶液洗脱、包埋、切成 50 nm 的薄片,3%醋酸铀和枸橼酸铅双染色,透射电镜观察并拍照。

1.8 Western blot 检测海马组织 PI3K、Akt 蛋白表达水平

取 2 组小鼠各 3 只的一侧海马组织,加入 RIPA 裂解液,研磨 10 min,4 ℃,12 000 r/ min 离心 10 min,取上清液即为总蛋白。依据 BCA 蛋白试剂盒说明书测定蛋白浓度。制胶、上样、电泳和转膜。封闭,加入兔抗小鼠一抗 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt,4 ℃孵育过夜。TBST 洗膜 3 次,10 min/次。加入山羊抗兔二抗,室温孵育 1 h。TBST 洗膜 3 次,10 min/次,加入显色液,曝光,用 Image J 软件计算条带灰度值。GAPDH 为内参蛋白,蛋白水平为目的蛋白与内参的比值。

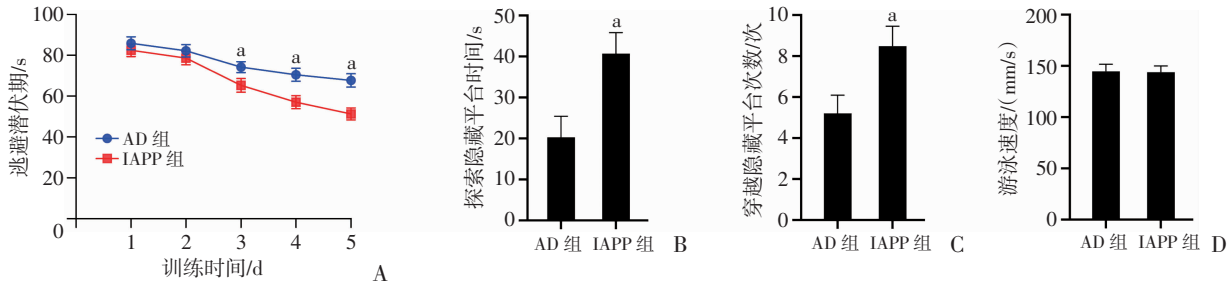
1.9 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.5 软件对数据进行处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,符合正态分布的 2 组间比较采用独立样本 t 检验或方差分析;不符合正态分布的 2 组间比较采用 Wilcoxon 检验。检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 IAPP 对 AD 小鼠学习和记忆的影响

定位航行实验结果显示,2 组小鼠的逃避潜伏期连续 5 d 均呈现下降趋势,但前 2 d 的逃避潜伏时间差异无统计学意义,而 IAPP 组小鼠较 AD 组小鼠的逃避潜伏期从第 3 天开始明显缩短($P<0.01$),在第 4 天和第 5 天差异更为显著($P<0.01$),表明腹腔注射 IAPP 可以缓解 AD 鼠空间学习能力的损害。空间探索实验结果显示,与 AD 组小鼠相比,IAPP 组小鼠探索隐藏平台时间显著增多($P<0.01$);同时,IAPP 组小鼠的穿越平台次数比起 AD 组小鼠也显著增加($P<0.01$),表明 IAPP 可以改善 AD 小鼠的空间参考记忆能力。此外,在 Morris 水迷宫实验期间,2 组小鼠的平均游泳速度均未见明显差异,证明小鼠间游泳运动能力无明显差别,见图 1。



a:$P<0.01$,与 AD 组比较

A:逃避潜伏期时间;B:探索隐藏平台时间;C:穿越隐藏平台次数;D:游泳速度

图 1 IAPP 对 AD 小鼠学习和记忆的影响($n=10,\bar{x}\pm s$)

2.2 IAPP 对 AD 鼠海马组织细胞形态结构的影响

HE 染色显示,AD 组海马区神经元排列紊乱,轮廓模糊,间隙增大,细胞核仁不清,细胞核肿胀模糊,有较多神经元核固缩坏死。IAPP 组小鼠海马区神经元损伤得到一定程度的改善,神经细胞排列、细胞核肿胀和核固缩等方面情况优于 AD 组。此外,2 组小鼠细胞数量差异具有统计学意义($P<0.05$),表明 IAPP 可以减缓 AD 鼠的神经元损伤。Aβ 免疫组化结果显示,与 AD 组比较,IAPP 组海马组织 Aβ 斑块数量明显更少,Aβ 阳性面积也更小($P<0.01$),表明 IAPP 可以减少海马神经元 Aβ 的表达,见图 2。

2.3 IAPP 对 AD 小鼠海马组织 Aβ42 含量、氧化应激水平及血清 Aβ42 含量的影响

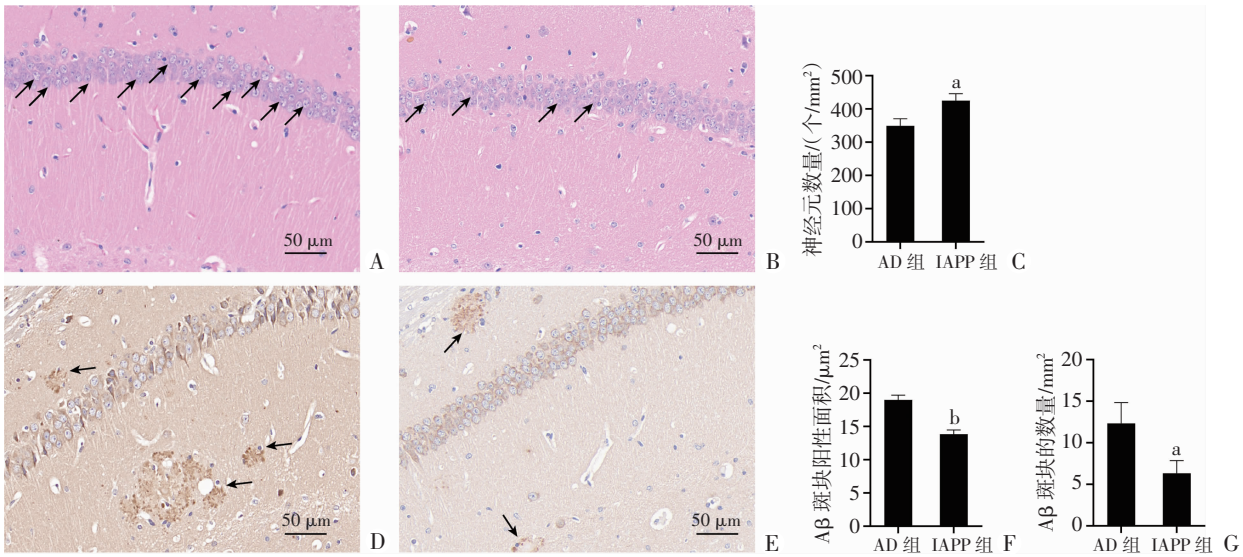
与 AD 组比较,IAPP 组小鼠海马组织 SOD 和 GSH-Px 含量均明显升高,MDA 和 Aβ42 含量显著下降($P<0.05$,$P<0.01$)。但与 AD 组小鼠相比,IAPP 组小鼠血清 Aβ42 含量显著升高($P<0.05$)。见图 3。

2.4 IAPP 对 AD 小鼠海马组织炎症因子 IL-1β、TNF-α 和 IL-6 水平的影响

ELISA 结果显示,与 AD 组比较,IAPP 组小鼠海马组织 IL-1β、TNF-α 和 IL-6 的含量均下降($P<0.01$),表明 IAPP 可以降低炎症反应,见图 4。

2.5 IAPP 对小鼠海马超微结构的影响

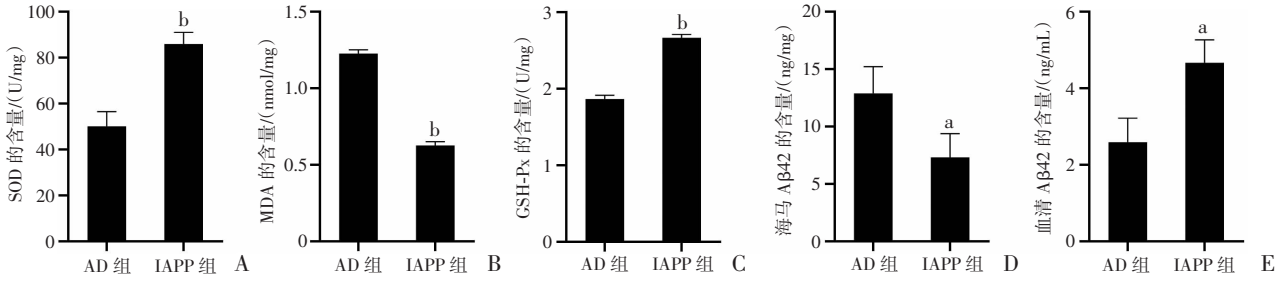
透射电镜结果显示,与 AD 组比较,IAPP 组海马神经元线粒体结构较为清晰,空泡化减少,微管、微丝排列较为整齐,线粒体肿胀和线粒体嵴断裂的程度有所缓解,表明 IAPP 可以改善 AD 鼠海马神经元的超微结构,见图 5。



a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 AD 组比较;箭头示细胞核固缩的细胞或 Aβ 斑块

A:AD 组海马 HE 染色;B:IAPP 组海马 HE 染色;C:海马区神经元数量;D:AD 组海马 Aβ 免疫组化;E:IAPP 组海马 Aβ 免疫组化;F:海马区 Aβ 的阳性面积;G:海马区 Aβ 的斑块数量

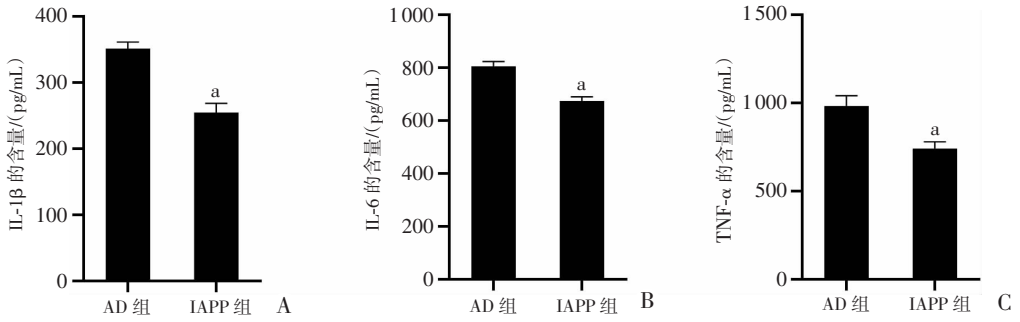
图 2 2 组小鼠海马组织 HE 染色和 Aβ42 免疫组化染色($n=3$,$\bar{x}\pm s$)



a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 AD 组比较

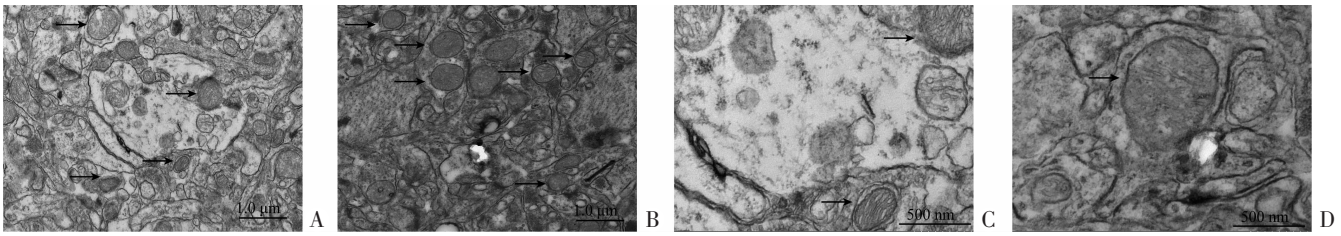
A~C:海马组织 SOD、MDA、GSH-Px 的水平;D、E:海马和血清 Aβ42 的含量

图 3 IAPP 对 AD 小鼠海马组织 SOD、MDA 和 GSH-Px 水平及海马和血清 Aβ42 含量的影响($n=3$,$\bar{x}\pm s$)



a:$P<0.01$,与 AD 组比较

图 4 IAPP 对 AD 小鼠海马组织炎症因子 IL-1β(A)、IL-6(B)和 TNF-α(C)水平的影响($n=3,\bar{x}\pm s$)



A、C:AD 组海马区电镜观察;B、D:IAPP 组海马区电镜观察;箭头示损伤的线粒体

图 5 IAPP 对 AD 组小鼠海马超微结构的影响

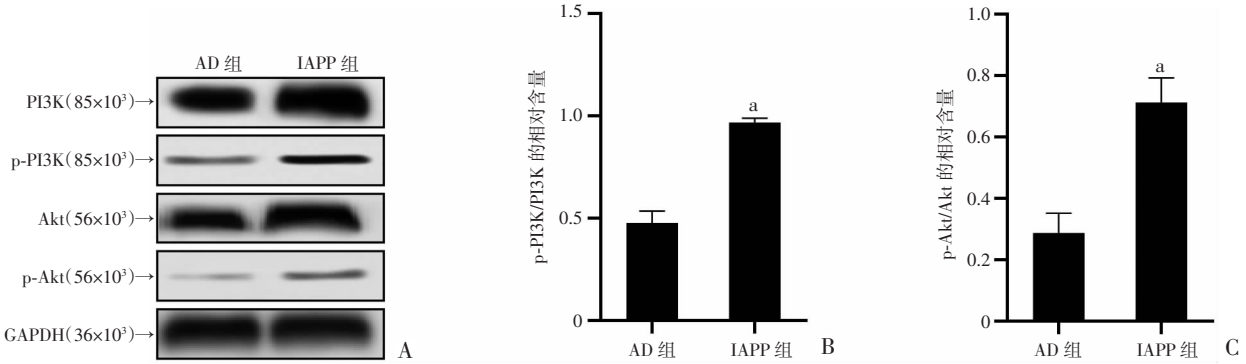
2.6 IAPP 对 AD 小鼠海马组织 PI3K/Akt 信号通路的影响

Western blot 结果显示,与 AD 组比较,IAPP 组 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 相对表达水平均显著升高($P<0.01$),见图 6。

3 讨论

虽然其他研究表明 IAPP 在改善 AD 小鼠 Aβ 病理学和认知方面具有假定的新作用[13],但是其分子机制有待进一步的研究。本研究数据表明,长期外周补充 IAPP 治疗可以通过激活 PI3K/Akt 信号通路,有效减少 APP/PS 小鼠的 Aβ 沉积、氧化应激、神经炎症、线粒体功能障碍和认知障碍。

既往研究表明,IAPP 在 AD 进展过程中显著上调[14-15],这表明 IAPP 在 AD 的发展中发挥着调节作用。过去 10 年阐明的 IAPP 在 AD 病理学中的机制仍然存在争议[16],值得进一步探讨。多项证据表明 IAPP 和 Aβ 相互作用,并且 IAPP 以类似播种的方式促进 Aβ 沉积[17-18]。然而,其他研究已经证明了 IAPP 在AD中的潜在治疗作用[19-20],并且已经达成共识,



a:$P<0.01$,与 AD 组比较

A:Western blot 检测 2 组小鼠海马组织 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白的表达;B、C:p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 的半定量分析

图 6 Western blot 检测 IAPP 对 AD 小鼠 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达的影响($n=3,\bar{x}\pm s$)

即 IAPP 类似物和治疗糖尿病的安全药物普拉林肽可以被重新用于治疗 AD[21-22]。因此,IAPP 可能具有剂量依赖性的 U 型效应,抑制 AD 发病[23],因为研究发现 AD 风险呈 U 型曲线,如血浆胰岛淀粉样肽浓度过低和过高都会增加 AD 风险[15]。因此,本研究首先采用 Morris 水迷宫实验验证 IAPP 对 AD 小鼠学习和记忆的影响,结果显示 IAPP 的腹腔注射可以减少 APP/PS1 小鼠的逃避潜伏期,并且可以增加小鼠的目标象限停留时间和穿越平台次数。这些结果与既往的研究结果一致,均证实了 IAPP 可缓解 AD 小鼠的认知损伤[9-10]。

淀粉样蛋白前体蛋白 APP 变性过程中产生的神经毒性 Aβ 肽的积累和聚集在 AD 发病机制中起关键作用[24]。因此,减少 Aβ 的产生,促进 Aβ 清除是 AD 治疗的重要策略。为进一步研究 IAPP 改善 AD 认知损伤的分子机制,本研究利用 HE 染色观察 AD 小鼠海马组织的结构变化。结果显示,IAPP 腹腔注射 10 周后,AD 小鼠海马区神经元损伤得到一定程度的缓解,神经细胞排列、细胞核肿胀和核固缩等方面情况均被改善。Aβ42 和 Aβ40 是 Aβ 的两种主要亚型。尽管 Aβ40 浓度比 Aβ42 高几倍,但 AD 大脑中的淀粉样斑块主要由 Aβ42 组成[25]。通过 Aβ 的免疫组化标记了 AD 小鼠海马区的老年斑,结果显示 IAPP 具有抑制 Aβ 沉积的作用,减少了 Aβ 斑块的数量。此外,本研究利用 ELISA 试剂盒分别检测了 AD 组和 IAPP 组小鼠海马组织和血清中 Aβ42 的含量,结果显示 IAPP 组小鼠海马组织中 Aβ42 含量明显低于 AD 组,而血清中 Aβ42 含量则高于 AD 组,与 MOHAMED 等[10]研究结果一致。以上结果表明 IAPP 可以改善 APP/PS1 小鼠海马的 AD 样病理改变。

氧化应激与 Aβ 的产生和聚集以及 tau 的磷酸化和聚合密切相关,是导致 AD 发生和发展的关键因素[26]。在 AD 小鼠的大脑中,MDA 和 ROS 的程度显著增强,而 MDA 和 ROS 是由受损线粒体异常产生的,导致氧化应激[27]。SOD 和 GSH 是清除自由基的两种主要抗氧化剂,已被用作 AD 小鼠脂质过氧化严重程度的指标,Aβ 可显著改变这些酶的程度[27-28]。药物阻断氧化应激被认为是阻止 AD 病理进展的有效方法[29]。本研究已经表明 IAPP 可以减少 Aβ 的沉积,为了进一步明确 IAPP 是否能够降低 AD 的氧化应激水平,本研究采用试剂盒检测了 MDA、SOD 和 GSH-Px 的水平。结果显示,IAPP 组小鼠海马组织中抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 水平升高,脂质过氧化产物 MDA 水平下降,这意味着 IAPP 具有抗氧化的作用。

神经炎症也是与 AD 发病密切相关的病理过程。细胞外 Aβ 的沉积通过激活小胶质细胞和星形胶质细胞参与神经炎症的发生[30]。神经炎症和小胶质细胞活化可引起氧化应激;此外,它可导致 AD 患者脑内 Aβ 斑块和 NFT 形成增加,最终导致神经元损伤[31]。活化的小胶质细胞还能产生促炎细胞因子(TNF-α、IL-1β、IL-6)、趋化蛋白-1 等,这些都能引起神经元损伤,参与 AD 的病理过程[32]。为验证 IAPP 是否具有降低 AD 海马组织炎症水平的作用,本研究利用 ELISA 试剂盒检测了海马组织中炎症因子 TNF-α、IL-1β、IL-6 的含量。结果显示,IAPP 组小鼠海马组织中 TNF-α、IL-1β、IL-6 的含量均下降,这意味着 IAPP 可以降低 AD 的炎症水平。

线粒体功能障碍被认为是 AD 病理生理过程中的早期事件。线粒体功能障碍的直接后果是活性氧产生增加,进而促进 DNA、蛋白质和脂质的氧化损伤[33]。Aβ 斑块的沉积会导致神经元线粒体内氧化应激水平增加,而氧化应激水平增加是由于活性氧产生增强和/或抗氧化防御机制降低所致[33-34]。为进一步明确 IAPP 是否能够改善 AD 线粒体功能障碍,本研究通过透射电镜观察了 AD 小鼠海马区线粒体超微结构变化。结果显示,IAPP 干预可以改善线粒体的空泡化和线粒体的肿胀程度,这意味着 IAPP 可以改善 AD 小鼠的线粒体功能障碍。

PI3K/Akt 信号通路在神经可塑性、线粒体功能和氧化应激等生理过程中发挥重要作用[35]。PI3K/Akt 通路的激活也可以通过调节 APP 的切割来抑制 Aβ42 的产生[36]。此外,PI3K/Akt 通路与神经炎症密切相关[37]。因此,为进一步研究 IAPP 是否能够影响 PI3K/Akt 信号通路,本研究通过检测小鼠海马组织的 PI3K、p-PI3K、Akt 和 p-Akt 蛋白含量,发现 IAPP 干预 10 周后,p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 的相对含量上升,表明 IAPP 可以激活 PI3K/Akt 信号通路。

综上所述,本研究证实 IAPP 可以改善 APP/PS1 小鼠的认知功能,抑制氧化应激和炎症因子的表达,减少 Aβ 在大脑中的沉积和改善线粒体功能障碍,该效应可能与 PI3K/Akt 信号通路显著激活有关。但 IAPP 调控 PI3K/Akt 信号通路的具体分子机制,该通路的上调与 APP/PS1 小鼠的认知功能改善之间的因果关系,以及 IAPP 对星形胶质细胞和小胶质细胞活化程度的影响,均需要进一步研究探讨,为开发 AD 的治疗药物提供实验依据和理论基础。

参考文献:

[1] PENG D Z, XU S M, ZOU T, *et al*. Safety, tolerability,

pharmacokinetics and effects of diet on AD16, a novel neuroinflammatory inhibitor for Alzheimer's disease: a randomized phase 1 study[J]. BMC Med, 2023, 21(1): 459. DOI: 10.1186/s12916-023-03126-9.

[2] SCHELTENS P, DE STROOPER B, KIVIPELTO M, *et al*. Alzheimer's disease[J]. Lancet, 2021, 397(10284): 1577-1590. DOI:10.1016/S0140-6736(20)32205-4.

[3] XIONG J, KANG S S, WANG Z H, *et al*. FSH blockade improves cognition in mice with Alzheimer's disease[J]. Nature, 2022, 603(7901): 470-476. DOI: 10.1038/s41586-022-04463-0.

[4] TORAL-RIOS D, LONG J M, ULRICH J D, *et al*. Cholesterol 25-hydroxylase mediates neuroinflammation and neurodegeneration in a mouse model of tauopathy[J]. J Exp Med, 2024, 221(4): e20232000. DOI: 10.1084/jem.20232000.

[5] CORRIGAN R R, PIONTKIVSKA H, CASADESUS G. Amylin pharmacology in Alzheimer's disease pathogenesis and treatment[J]. Curr Neuropharmacol, 2022, 20(10): 1894-1907. DOI: 10.2174/1570159X19666211201093147.

[6] YANG C Z, WANG S H, ZHANG R H, *et al*. Neuroprotective effect of astragalin *via* activating PI3K/Akt-mTOR-mediated autophagy on APP/PS1 mice[J]. Cell Death Discov, 2023, 9(1): 15. DOI: 10.1038/s41420-023-01324-1.

[7] HUANG J, HUANG N Q, QIU Y, *et al*. *Dendrobium nobile* Lindl. alkaloid decreases Tau hyperphosphorylation *via* regulating PI3K/Akt/GSK-3β pathway *in vitro* and *in vivo*[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 322:117592. DOI:10.1016/j.jep.2023.117592.

[8] GOUVEIA F, FONSECA C, SILVA A, *et al*. Intranasal irbesartan reverts cognitive decline and activates the PI3K/AKT pathway in an LPS-induced neuroinflammation mice model[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 128: 111471. DOI: 10.1016/j.intimp.2023.111471.

[9] ZHU H, WANG X, WALLACK M, *et al*. Intraperitoneal injection of the pancreatic peptide amylin potently reduces behavioral impairment and brain amyloid pathology in murine models of Alzheimer's disease[J]. Mol Psychiatry, 2015, 20(2): 252-262. DOI: 10.1038/mp.2014.17.

[10] MOHAMED L A, ZHU H H, MOUSA Y M, *et al*. Amylin enhances amyloid-β peptide brain to blood efflux across the blood-brain barrier[J]. J Alzheimers Dis, 2017, 56(3): 1087-1099. DOI: 10.3233/JAD-160800.

[11] DHARMARAJ G L, ARIGO F D, YOUNG K A, *et al*. Novel amylin analogues reduce amyloid-β cross-seeding aggregation and neurotoxicity[J]. J Alzheimers Dis, 2022, 87(1): 373-390. DOI: 10.3233/JAD-215339.

[12] CHEN H C, CAO J X, CAI Y T, *et al*. Interaction of human IAPP and $A\beta_{1-42}$ aggravated the AD-related pathology and impaired the cognition in mice[J]. Exp Neurol, 2020, 334: 113490. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113490.

[13] YANG Y Y, REN Y T, JIA M Y, *et al*. The human islet amyloid polypeptide reduces hippocampal tauopathy and behavioral impairments in P301S mice without inducing neurotoxicity or seeding amyloid aggregation[J]. Exp Neurol, 2023, 362: 114346. DOI: 10.1016/j.expneurol.2023.114346.

[14] MARTINEZ-VALBUENA I, VALENTI-AZCARATE R, AMAT-VILLEGAS I, *et al*. Amylin as a potential link between type 2 diabetes and alzheimer disease[J]. Ann Neurol, 2019, 86(4): 539-551. DOI: 10.1002/ana.25570.

[15] ZHU H H, TAO Q S, ANG T F A, *et al*. Association of plasma amylin concentration with alzheimer disease and brain structure in older adults[J]. JAMA Netw Open, 2019, 2(8): e199826. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2019.9826.

[16] MIETLICKI-BAASE E G. Amylin in Alzheimer's disease: pathological peptide or potential treatment?[J]. Neuropharmacology, 2018, 136(Pt B): 287-297. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.12.016.

[17] BAKOU M, HILLE K, KRACKLAUER M, *et al*. Key aromatic/hydrophobic amino acids controlling a cross-amyloid peptide interaction *versus* amyloid self-assembly[J]. J Biol Chem, 2017, 292(35): 14587-14602. DOI: 10.1074/jbc.M117.774893.

[18] GE X W, YANG Y, SUN Y X, *et al*. Islet amyloid polypeptide promotes amyloid-beta aggregation by binding-induced *Helix*-unfolding of the amyloidogenic core[J]. ACS Chem Neurosci, 2018, 9(5): 967-975. DOI: 10.1021/acschemneuro.7b00396.

[19] NA H N, TIAN H, ZHANG Z R, *et al*. Oral amylin treatment reduces the pathological cascade of Alzheimer's disease in a mouse model[J]. Am J Alzheimers Dis Other Demen, 2021, 36: 15333175211012867. DOI: 10.1177/15333175211012867.

[20] NASSAR S Z, BADAE N M, ISSA Y A. Effect of amylin on memory and central insulin resistance in a rat model of Alzheimer's disease[J]. Arch Physiol Biochem, 2020, 126(4): 326-334. DOI: 10.1080/13813455.2018.1534244.

[21] GRIZZANTI J, CORRIGAN R, CASADESUS G. Neuroprotective effects of amylin analogues on Alzheimer's disease pathogenesis and cognition[J]. J Alzheimers Dis, 2018, 66(1): 11-23. DOI: 10.3233/JAD-180433.

[22] PATRICK S, CORRIGAN R, GRIZZANTI J, *et al*.

Neuroprotective effects of the amylin analog, pramlintide, on Alzheimer's disease are associated with oxidative stress regulation mechanisms[J]. J Alzheimers Dis, 2019, 69(1): 157-168. DOI: 10.3233/JAD-180421.

[23] GAN Q N, YAO H B, NA H N, *et al*. Effects of amylin against amyloid-β-induced tauopathy and synapse loss in primary neurons[J]. J Alzheimers Dis, 2019, 70(4): 1025-1040. DOI: 10.3233/JAD-190161.

[24] HE S, SHI J H, MA L N, *et al*. Total ginsenosides decrease Aβ production through activating PPARγ[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 174: 116577. DOI: 10.1016/j.biopha.2024.116577.

[25] TU S C, OKAMOTO S I, LIPTON S A, *et al*. Oligomeric Aβ-induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease[J]. Mol Neurodegener, 2014, 9: 48. DOI: 10.1186/1750-1326-9-48.

[26] BUTTERFIELD D A. Perspectives on oxidative stress in Alzheimer's disease and predictions of future research emphases[J]. J Alzheimers Dis, 2018, 64(s1): S469-S479. DOI: 10.3233/JAD-179912.

[27] HE Z J, LI X Q, WANG Z, *et al*. Esculentoside A alleviates cognitive deficits and amyloid pathology through peroxisome proliferator-activated receptor γ-dependent mechanism in an Alzheimer's disease model[J]. Phytomedicine, 2022, 98: 153956. DOI: 10.1016/j.phymed.2022.153956.

[28] LI Q Y, WANG J H, LI Y W, *et al*. Neuroprotective effects of salidroside administration in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(5): 7287-7292. DOI: 10.3892/mmr.2018.8757.

[29] YANG P, SHENG D Y, GUO Q, *et al*. Neuronal mitochondria-targeted micelles relieving oxidative stress for delayed progression of Alzheimer's disease[J]. Biomaterials, 2020, 238: 119844. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2020.119844.

[30] LI S, TIAN Z Q, XIAN X H, *et al*. Catalpol rescues cognitive deficits by attenuating amyloid β plaques and neuroinflammation[J]. Biomedecine Pharmacother, 2023, 165: 115026. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115026.

[31] GUADAGNO J, XU X, KARAJGIKAR M, *et al*. Microglia-derived TNFα induces apoptosis in neural precursor cells *via* transcriptional activation of the Bcl-2 family member *Puma*[J]. Cell Death Dis, 2013, 4(3): e538. DOI: 10.1038/cddis.2013.59.

[32] TIAN Z Q, ZENG W F, YAN C H, *et al*. SRPK2 expression and beta-amyloid accumulation are associated with BV2 microglia activation[J]. Front Integr Neurosci, 2021, 15: 742377. DOI: 10.3389/fnint.2021.742377.

[33] CALVO-RODRIGUEZ M, KHARITONOVA E K, SNYDER A C, *et al*. Real-time imaging of mitochondrial redox reveals increased mitochondrial oxidative stress associated with amyloid β aggregates *in vivo* in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. Mol Neurodegener, 2024, 19(1): 6. DOI: 10.1186/s13024-024-00702-2.

[34] VON BERNHARDI R, EUGENÍN J. Alzheimer's disease: redox dysregulation as a common denominator for diverse pathogenic mechanisms[J]. Antioxid Redox Signal, 2012, 16(9): 974-1031. DOI: 10.1089/ars.2011.4082.

[35] CAO H, ZUO C C, GU Z Y, *et al*. High frequency repetitive transcranial magnetic stimulation alleviates cognitive deficits in 3xTg-AD mice by modulating the PI3K/Akt/GLT-1 axis[J]. Redox Biol, 2022, 54: 102354. DOI: 10.1016/j.redox.2022.102354.

[36] YOON J H, LEE N, YOUN K, *et al*. Dieckol ameliorates aβ production *via* PI3K/akt/GSK-3β regulated APP processing in SweAPP N2a cell[J]. Mar Drugs, 2021, 19(3): 152. DOI: 10.3390/md19030152.

[37] LU C Y, DAY C H, KUO C H, *et al*. Calycosin alleviates H_2O_2-induced astrocyte injury by restricting oxidative stress through the Akt/Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. Environ Toxicol, 2022, 37(4): 858-867. DOI: 10.1002/tox.23449.

(收稿:2024-04-18;修回:2024-05-14)

(编辑 吴培红)